ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1961 N° 28

Etude de la Méthode de Ferrana et de Paolis pour le dosage de la Matière Grasse du Lait

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(Diplôme d'État)

Présentée et soutenue publiquement en Juin 1961

DEVANT LA

Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Toulouse

PAR

JEAN-PAUL DIACRE

Né le 20 Octobre 1934, à THOUARS (Deux-Sèvres)

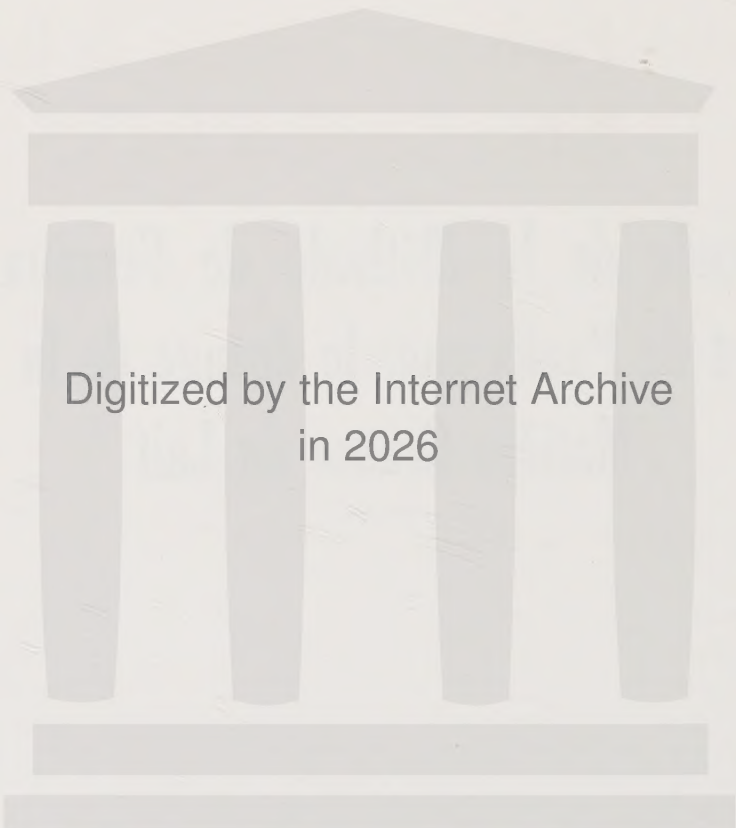
JURY
- Président : M. BOURBON, Professeur à la Faculté de Médecine.
- Assesseurs : M. DARRASPEN, Professeur à l'École Vétérinaire.
- Assesseurs : M. GODFRAIN, Professeur à l'École Vétérinaire.

IMPRIMERIE SOUBIRON

9, Rue de la Poste

TOULOUSE

Etude de la Méthode de Ferrana et de Paolis pour le dosage de la Matière Grasse du Lait


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546524_0090

ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1961 N° 28

Etude de la Méthode de Ferrana et de Paolis pour le dosage de la Matière Grasse du Lait

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(Diplôme d'État)

Présentée et soutenue publiquement en Juin 1961

DEVANT LA

Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Toulouse

PAR

JEAN-PAUL DIACRE

Né le 20 Octobre 1934, à THOUARS (Deux-Sèvres)

JURY
- Président : M. BOURBON, Professeur à la Faculté de Médecine.
- Assesseurs : M. DARRASPEN, Professeur à l'École Vétérinaire.
- Assesseurs : M. GODFRAIN, Professeur à l'École Vétérinaire.

IMPRIMERIE SOUBIRON

9, Rue de la Poste

TOULOUSE

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

	MM.
Directeur	PONS
Professeur Honoraire	LASSERRE

PERSONNEL ENSEIGNANT

PROFESSEURS

Physique et Chimie Biologique Pharmacie et Toxicologie Hygiène du Lait	GODFRAIN
Anatomie descriptive - Extérieur Anatomie appliquée	BLIN
Physiologie et Thérapeutique Pharmacodynamie	LE BARS
Histologie - Embryologie Anatomie Pathologique Inspection des Viandes	LOMBARD
Zoologie appliquée - Botanique Parasitologie Externe Parasitologie Interne	BRIZARD
Pathologie médicale des Equidés et Carnivores Législation Vétérinaire	DARRASPEN
Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse cour	TOURNUT
Technique chirurgicale Pathologie chirurgicale	PUGET
Pathologie de la Reproduction Obstétrique	BERTHELON
Microbiologie - Immunologie Maladies contagieuses Police sanitaire	SAURAT
Ethnologie Hygiène Agronomie Alimentation Zootechnie Economie rurale	PONS

CHEFS DE TRAVAUX

	MM.
Maladies Contagieuses	LAUTIE, Agrégé
Zootechnie	FALIU, Agrégé
Pathologie Médicale - Législation Vétérinaire	LESCURE, Agrégé
Anatomie Pathologique	GOULARD
Pathologie Chirurgicale	CAZIEUX
Pathologie de la Reproduction	ROYAL
Chimie	MILHAUD

COURS COMPLEMENTAIRES

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Radiologie	AUVERGNAT
Droit Vétérinaire	LINON
Botanique	MORQUER
Pisciculture	SECONDAT
Agronomie	BRISEBOIS
Economie Rurale	MONTANE DE LA ROQUE

ASSISTANT

Pathologie Médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour	LACAZE

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (Délibération de la Faculté, en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole, en date du 13 juin 1924).

A la mémoire de mon grand-père

A ma grand'mère

qui fait tant pour nous

A mes parents

en témoignage de mon affection et
de ma reconnaissance.

A ma femme et à mon fils

en gage de mon amour

A mes beaux-parents

A mes amis

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

pour le grand honneur qu'il nous a fait en acceptant la présidence de ce jury de thèse.

Hommage respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur DARRASPEN

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Chevalier de la Légion d'Honneur

qu'il veuille bien trouver ici le témoignage de notre respect et de notre gratitude.

Monsieur le Professeur GODFRAIN

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

A qui nous devons le sujet de cette thèse et qui nous fit l'honneur de nous accueillir dans son laboratoire.

Notre profonde reconnaissance.

A tous nos maîtres

I N T R O D U C T I O N

Parmi les diverses analyses effectuées sur le lait, le dosage de la matière grasse est la plus importante. Depuis l'institution du contrôle laitier et du paiement du lait selon sa teneur en matière grasse, elle est devenue l'analyse la plus couramment faite au laboratoire comme à l'étable.

Pour cette raison, il faut pouvoir réaliser ce dosage de façon précise dans toutes les circonstances qui le nécessitent, sans cependant avoir recours à un personnel hautement spécialisé et sans obliger celui-ci à manipuler des réactifs dangereux.

Le dosage de la matière grasse se fait généralement selon la méthode de GERBER (1892). Cette méthode est une variante de la méthode de BABCOCK (1890) utilisée encore aux Etats-Unis et dans tous les pays de langue anglaise. Ces deux méthodes, universellement utilisées à cause de leur simplicité d'exécution et à cause de la précision de leurs résultats, nécessitent l'emploi d'un réactif très dangereux : l'ACIDE SULFURIQUE.

Depuis 1872, très nombreux furent les expérimentateurs qui présentèrent des méthodes susceptibles de remplacer celles de BABCOCK et de GERBER.

En 1957, deux auteurs Italiens FERRARA et DE PAOLIS, proposaient une nouvelle méthode qui offrait les avantages d'être simple, précise et inoffensive pour ses promoteurs . Son essai fait l'objet de ce modeste travail.

Après avoir rappelé quelques généralités sur la matière grasse du lait et sur son dosage, nous retracerons

un bref historique des différentes méthodes sinacides qui ont déjà été proposées, et, dont cette dernière s'inspire.

Enfin, nous réaliserons l'expérimentation proprement dite de la méthode de FERRARA et de PAOLIS.

PREMIERE PARTIE

GENERALITES SUR LA MATIERE GRASSE DU LAIT ET SUR SON DOSAGE

I - LA MATIERE GRASSE DU LAIT :

DEFINITION -

On désigne sous le terme de "matière grasse" l'ensemble des substances lipoïdes que l'on peut doser, dans un lait normal, par la méthode pondérale de ROSE - GOTTLIEB (1).

COMPOSITION CHIMIQUE -

Les lipides du lait de vache sont constitués de graisses neutres, de lipides complexes (lecithines) et d'esters du cholestérol.

La matière grasse proprement dite est composée d'une part, de lipides vrais, qui sont les esters neutres de la glycérine dans lesquels les trois fonctions alcool du glycérol sont liées à trois molécules d'acides gras et d'autre part de phosphatides.

(1) Dans un Tube de RIETER on mélange par agitation pendant 1 à 2 minutes 10 cm3 de lait + 2 cm3 d'ammoniaque, ensuite 100 cm3 d'alcool à 96°, puis 25 cm3 d'éther.
Après agitation du Tube on ajoute encore 25 cm^3 d'éther de pétrole. Deux couches se séparent. Au bout d'une demi-heure, on prélève dans une capsule tarée, un volume donné de la couche supérieure, qui est une solution éthérée de graisse. Après évaporation, réalisée comme la méthode d'ADAM-MEILLERE, on pèse la capsule et à partir du résultat on obtient, par calcul, la quantité de matière grasse au litre.

Ces derniers, encore appelés phospholipides, sont des glycérophosphates de choline (lecithines) ou de colamine (céphalines) dans lesquels deux fonctions alcool de la glycérine sont liées à des acides gras, la troisième étant liée à la choline ou à la colamine par l'intermédiaire d'une molécule d'acide phosphorique.

On ne trouve jamais à l'état normal dans le lait frais des acides gras libres. Ils n'interviennent donc pas dans le dosage de la matière grasse du lait.

Le pourcentage de ces différents constituants varie suivant les laits. En moyenne, un litre de lait contient de 30 à 50 g. de lipides vrais pour 0,5 à 1 g. de phosphatides.

Cette matière grasse est caractérisée par sa teneur en acides gras volatils, solubles dans l'eau, c'est-à-dire à petites molécules.

STRUCTURE PHYSIQUE :

La matière grasse du lait se présente sous la forme de gouttelettes sphériques, de dimensions variables allant de 2 à 10 μ et ayant une densité inférieure à celle du lait. C'est ce qui explique leur accumulation à la surface du lait au repos pour former la crème. Ces gouttelettes ou globules gras forment une émulsion stable grace aux phosphatides et aux esters du cholestérol qui, avec une protéine non encore déterminée, constituent autour d'eux une pellicule protectrice.

Ces corps, doués d'un pouvoir de tension superficielle et de propriétés émulsionnantes, interviennent dans la formation de la mousse visible sur un lait frais agité.

C'est RAHM, qui le premier mit en évidence l'existence de cette protéine en comparant la composition du lait écrémé à celle de la crème et à celle du beurre. Pour lui, ce ne serait pas une lactalbumine puisque le lait bouilli, donc débarassé de cette albumine par coagulation, peut encore mousser. Ce n'est pas non plus une caséine puisque le

lait acidifié, donc sans caséine peut encore mousser par agitation.

Pour d'autres auteurs comme STORCH, ce serait une substance mucilagineuse qui jouerait ce rôle protecteur. Par contre, HAMMARSTEN et d'autres, attribuent ce rôle à la lactoglobuline, se trouvant en faible quantité dans le lait de vache. Pour KOPACZEWSKI, il ne s'agit peut-être que d'une modification de l'état physique d'une protéine sous l'action d'un facteur mécanique.

L'existence et le rôle de ce film protidique avaient été supposées dès 1879, par WMORD qui avait, par agitation d'une dispersion d'albumine dans de l'huile, provoqué la formation d'une couche protectrice autour de chaque micelle rendant ainsi cette émulsion aussi stable que celle du lait.

Mais, tous les phosphatides n'entrent pas dans la composition de ce film protecteur autour des globules gras. Une partie d'entre eux est fixée à certaines protéines du sérum par des liaisons ou cenapses que l'on doit rompre par certaines substances (acides, alcools, alcalis) pour les libérer et réaliser un dosage plus complet de la matière grasse.

Le lait contient donc en dispersion plus ou moins forte, dans une solution colloïdale complexe, des matières grasses, de la caséine, des albumines et des globulines. Ces éléments par leur structure physique contribuent à réaliser une émulsion stable. La rupture de cette équilibre permet d'obtenir d'une part les graisses et d'autre part des micelles colloïdales hydrosolubles.

Nous allons voir comment les différents auteurs sont arrivés à réaliser cette rupture.

II - PRINCIPE DU DOSAGE DE LA MATIERE GRASSE

Le dosage de la matière grasse comporte deux phases successives :

- Premièrement la séparation de la matière grasse des autres constituants du lait.

- Deuxièmement son extraction pour en mesurer la quantité.

1er TEMPS : Disjonction du lait et libération de la matière grasse.

La matière grasse, glycérides simples et phosphoglycérides, se trouve, nous l'avons vu, en partie à l'état d'émulsion, en partie liée à des protéines.

Pour libérer la matière grasse, il faut rompre l'émulsion et rompre les liaisons des phosphatides avec les protéines du sérum.

Pour cela on agit :

Soit par dissolution des protéines-phosphatides sous l'action des alcalis : la soude dans la méthode d'ADAM ou l'ammoniaque dans les méthodes de BRUNO-RÖSE, GOTTLIEB.

Soit par décomposition chimique de ces éléments, sans altérer la matière grasse elle-même, par traitement acidé, c'est le cas des méthodes de BABCOCK et GERBER.

Soit par rupture physique des liaisons lipides-phosphatides et lipides protides.

On l'obtient - par coagulation acide du lait ; c'est la méthode de BORDAS et celle de TOUPLAIN.

- par déshydratation dans la méthode d'ANSELINI.

- par action de détergents ioniques. C'est le principe de la méthode de SCHAIN, reprise par GODFRAIN.

Pour faciliter la séparation, on ajoute une petite quantité d'alcool : butylique, amylique ou leurs isomères, la chaleur et la centrifugation quelques fois.

2ème TEMPS : Extraction et mesure de la matière grasse.

Nous avons le choix entre deux Types de méthodes.

1°) Les méthodes dites pondérables, comme celles de BORDAS-TOUPLAIN, RÖSE-GOTTLIEB, de MARCHAND, d'ADAM, d'ANSELINI, où l'extraction de la matière grasse se réalise par l'intermédiaire de solvants et sa mesure par pesée après évaporation du solvant.

2°) Les méthodes dites volumétriques, les plus fréquentes. On amène la matière grasse dans un tube gradué où l'on lit son volume. La plupart de ces méthodes nécessitent l'emploi de la centrifugeuse.

D E U X I E M E P A R T I E

ETUDE DE LA METHODE DE FERRARA ET DE PAOLIS

I - RAPPEL HISTORIQUE DES METHODES SINACIDES L'AYANT PRECEDEE ET INSPIREE

De nombreuses études et expérimentations ont précédé et influencé la réalisation de FERRARA et DE PAOLIS. Le problème était de remplacer l'acide sulfurique des méthodes de BABCOCK et de GERBER (1) par un réactif moins dangereux.

Un des premiers, SICHLER, substitue à l'acide sulfurique une solution saline constituée :

- d'eau distillée 850 cm3
- de citrate de soude 10 g.
- de phosphate de sodium 150 g.

Pour éviter la concurrence de cette méthode, GERBER imagine la méthode SAL-GERBER basée sur la dissolution de la caséine par les alcalis caustiques, à 45°c, en présence d'alcool isobutylique.

Ce procédé utilise les mêmes instruments que ceux de la méthode de GERBER et une solution "SAL" constituée par le mélange des sels "SAL" dans de l'eau froide. La température du mélange s'élevant rapidement, celui-ci est fil-

(1) La différence entre les deux méthodes vient de ce que, outre la différence d'appareils, GERBER ajoute de l'alcool amylique au mélange lait et acide.

tré lorsqu'elle est revenue à 15°c. La Technique de la méthode SAL est la même que celle de la méthode GERBER mais dans le butyromètre on verse :

11 cm3 de solution "SAL"
0,6 cm3 d'alcool isobutylique
10 cm3 de lait

et la température du bain-marie n'est que de 45°.

En 1927, MAGLIANO propose une nouvelle méthode utilisant toujours les tubes GERBER mais comme réactifs d'une part une solution alcaline de la liqueur de Fehling constituée de :

Soude caustique 60 g.
Tartrate de Soude et de Potasse 173 g.
Eau pour un volume d'un demi-litre.

et d'autre part un mélange alcoolique de 40 parties d'alcool méthylique et de 60 parties d'alcool isobutylique.

La technique proposée par MAGLIANO est la suivante : dans un butyromètre GERBER on verse :

10 cm3 de lait
3 cm3 de liqueur de Fehling
1 cm3 du mélange alcoolique

On porte le butyromètre au bain-marie à 82° pendant 5 minutes puis on agite et on remet au bain-marie pendant 3 à 5 minutes. La centrifugeuse n'est donc pas nécessaire.

Il y a quelques années GENTILINI, après une longue étude de toutes les méthodes sinacides, retient celle de KANDAT-ROSAM dont la solution saline est constituée de :

600 cm3 d'eau
5 g de phosphate de sodium
15 g de citrate de Sodium neutre
30 g de chlorure de Sodium
15 g d'Hydroxyde de Sodium

Le dosage de la matière grasse du lait réalisé avec cette Technique nécessite :

11 cm3 de Solution saline
0,5 cm3 d'alcool isobutylique
10 cm3 de lait

ainsi que l'emploi du bain-marie et de la centrifugeuse.

Cette méthode n'ayant pas donné des résultats précis, l'auteur cherche à expérimenter une solution saline permettant de dissoudre les protéines du lait et d'utiliser le butyromètre GERBER tout en évitant l'emploi de la centrifugeuse. Certains sels tels que le phosphâte de Sodium, le borate, le carbonate de soude retiennent l'attention de l'auteur. En fait, c'est le Salicylate de Sodium qui, à concentration donnée et associé à l'alcoolisoamylique, se trouve être le meilleur solvant.

GENTILINI introduit dans un butyromètre GERBER :

11 cm3 de solution de Salicylate de Soude à 60 %
1 cm3 d'alcool isoamylique
11 cm3 de lait

Le butyromètre, après avoir été énergiquement agité, est placé dans un bain-marie à 65° c pendant 5 minutes puis centrifugé 5 autresminutes avant d'être à nouveau placé dans le bain-marie à 65° c pendant 3 minutes. La lecture est alors faite. Pour éliminer la centrifugation GENTILINI est obligé de porter la Température du bain-marie, à 80° c pour une durée d'immersion de 100 à 120 minutes.

En 1953, SALERNO reprend la méthode de GENTILINI en l'expérimentant sur différents laits et en la comparant à la classique méthode de GERBER. SALERNO, après une longue série d'essais, constate que la méthode de GENTILINI donne de meilleurs résultats avec une solution de salicylate de soude à 65 % au lieu de 60 % et un bain-marie porté à 80 °c. De plus, il porte les durées d'immersion et de centrifugation à 10 minutes chacune. Les conclusions de SALERNO coïncident avec celles de GENTILINI en ce qui concerne la suppression de la centrifugation. Pour la réali-

ser, il faudrait un temps d'immersion de 120 minutes, ce qui est incompatible avec le but de la méthode que l'on veut rapide.

En 1949, SCHAIN et GERSHENFELD suggèrent l'emploi des détergents pour rompre le film protecteur des globules gras et libérer la matière grasse. Celle-ci est colorée par une substance colorante liposoluble.

A partir de ces éléments, GODFRAIN, en 1955, propose une méthode simple, pratique, sans danger, utilisant les appareils de GERBER et des détergents présents dans le commerce. Les essais de cette méthode, effectués par TRACATELIS furent favorablement concluants. Selon cette méthode, on versait dans un butyromètre GERBER :

11 cm3 de lait
8 cm3 d'un mélange ween 40 et Tergitol P. 28 (à raison de 20 cm3 du premier pour 100 cm3 du second).

L'ensemble est coloré par 2 cm3 de la solution saturée de l'écarlate RAL pour 120 cm3 du mélange ween 40 et Tergitol P. 28.

En 1957, FERRARA et DE PAOLIS mettent au point une nouvelle méthode sinacide, utilisant à la fois les détergents, une solution saline et le matériel GERBER. C'est cette méthode qui est l'objet de notre expérimentation.

II - PRINCIPE DU DOSAGE PAR LA METHODE DE FERRARA ET DE PAOLIS

Nous avons vu que la matière grasse existe dans le lait sous forme d'émulsion stable, chaque globule gras étant lié à des protéines qui forment une mince pellicule protectrice et maintenu en équilibre par le phénomène de Tension superficielle. La présence de ces protéines du lait autour du globule gras est le facteur essentiel de stabilité de l'émulsion dans le lait.

Pour réaliser la disjonction du lait et la libération de la matière grasse, il faut rompre l'équilibre "Protéines-globules gras". La méthode de FERRARA et DE PAOLIS réalise cette rupture par l'intermédiaire du détergent et de la solution saline. Le détergent se substitue à la matière grasse pour former un complexe "protéine-détergent" quant à la solution saline, il s'agit d'une solution de salicylate de soude qui avait déjà été retenue par GENTILINI comme étant le meilleur dissolvant salin de la caséine.

FERRARA et DE PAOLIS réalisent donc leur méthode à partir des études de GODFRAIN et de GENTILINI, en remplaçant un des détergents le Tergitol P 28, par la solution de Salicylate de Sodium.

III - LES REACTIFS UTILISES PAR LA METHODE

1°) LA SOLUTION DE SALICYLATE DE SODIUM -

Le Salicylate de sodium se présente sous la forme de fines aiguilles blanches, cristallisées, inodores. Il s'altère à la lumière et se colore en rose puis en brun. Il est soluble dans son poids d'eau froide. Il est hygroscopique.

Ce corps est incompatible avec les acides.

La plupart des auteurs, réalisant le dosage de la matière grasse avec une solution saline, utilisaient un ou plusieurs sels de Sodium. Les premiers à utiliser le salicylate de Sodium employèrent une solution à 60 % et même 65 %. FERRARA et DE PAOLIS préconisent l'emploi d'une solution à 45 % ce qui représente déjà une concentration assez forte. Si à faible concentration les sels de sodium provoquent la précipitation de la caséine et des autres protéines du lait, à la concentration indiquée, la dissolution de la caséine est parfaite. En effet ces sels solubles à réaction acide, c'est-à-dire plus ou moins ionisés avec mise en liberté d'ions H positifs agissent directement sur les ions des granules de la caseine qui sont des ions OH négatifs. La précipitation commence à froid lorsque le P H tombe en dessous de 5. Elle est totale lorsque le P H atteint 4,6 à 4,7 (point isoélectrique). Ce précipité à la possibilité ensuite de se redissoudre dans un excès d'acide par acido-solubilisation.

2°) LE TWEEN 40 -

Le Tween 40 ou polyethoxyether de monopalmitate de Sorbitan est un détergent non ionique de la famille

des polyglycols. Les polyoxyéthylène glycols ou polyglycols sont des polymères de l'éthylène glycol et comprennent toute une série de corps dont les poids moléculaires varient entre 200 pour le tétraéthylène glycol et 7 500 pour les hauts polymères solides.

Le Tween 40 possède les propriétés des polyglycols à faible poids moléculaire. Il se présente sous la forme d'un liquide semi-gélatineux, ambré.

Sa densité est de 1,05 à 1,10 et sa viscosité de 400 à 600.

Il est soluble dans l'eau, les alcalis, les acides dilués, les alcools, les solvants chlorés et les hydrocarbures aromatiques. Il est insoluble dans l'éther, les hydrocarbures aliphatiques et les huiles.

Ce produit est stable à chaud dans les acides dilués mais saponifié lentement en présence d'alcali dilué.

Il est imputréscible et résiste à un grand nombre de composés chimiques.

Son odeur est très faible. Il en est de même de sa toxicité.

C'est un émulsionnant d'où son emploi dans le dosage de la matière grasse.

3°) LA SOLUTION COLORANTE -

Comme colorant, les auteurs préconisent l'emploi du Soudan IV en solution saturée dans l'alcool isoamylique. En fait, on peut utiliser n'importe quel colorant soluble dans ces graisses.

4°) L'ALCOOL ISOAMYLIQUE -

Parmi les alcools, c'est celui qui donna les meilleurs résultats à GENTILINI.

Il agit en abaissant la tension superficielle donc en facilitant la destruction des émulsions de matière grasse.

IV - TECHNIQUE D'UTILISATION

La solution de FERRARA et DE PAOLIS se compose de :

100 cm3 d'une solution de salicylate de Sodium à 45 %

10 cm3 de Tween 40

5 gouttes de solution saturée de Soudan IV dans l'alcool isoamylique.

Au cours de nos essais, nous avons préparé la solution de la façon suivante.

On pèse, par double pesée, 45 g de Salicylate de Sodium que l'on verse dans un ballon jaugé de 100 cm3 on complète avec de l'eau distillée. Le salicylate se dissout très facilement à froid dans l'eau distillée. La poudre qui remplissait presque tout le flacon donne alors naissance à une bouillie puis à un liquide grisâtre. Cette solution, filtrée et laissée au repos deux à trois heures, s'éclaircit et devient légèrement sirupeuse.

Du récipient de Tween 40 mis au bain-marie, on prélève, à l'aide d'une pipette, 10 cm3 que l'on verse dans le récipient destiné à contenir la solution mère. On transvase une partie de la solution de salicylate de sodium dans ce récipient avec la même pipette qui se trouve ainsi entièrement débarassée du Tween qui restait sur ses parois.

Nous avons utilisé comme colorant des graisses l'Ecarlate RAL qui avait donné toute satisfaction à GOD-

FRAIN lors de la mise au point de sa méthode. Le colorant a les mêmes propriétés que le Soudan IV. On en prépare une solution saturée dans l'alcool isoamylique. Cinq gouttes seulement de cette solution saturée sont versées dans le récipient contenant le Tween et la solution de Salicylate de Sodium.

Avant de procéder au dosage, il faut réaliser une parfaite homogénéisation du lait à analyser qui est ensuite filtré.

Alors que les méthodes utilisant les appareils GERBER emploient 11 cm3 de lait, les auteurs n'utilisent pour leurs dosages que 10,4 cm^3 de lait. Ne trouvant dans le commerce que des pipettes à lait de 11 cm3, nous avons préparé des pipettes jaugées à 10,4 cm3 pour faciliter les manipulations au cours de nos essais.

Selon la méthode de FERRARA et DE PAOLIS, pour réaliser le dosage de la matière grasse d'un lait, on effectue les opérations suivantes :

Dans un butyromètre GERBER, on verse :

10,4 cm3 de lait
10 cm3 de solution de FERRARA et DE PAOLIS
1 cm3 d'alcool isoamylique

On bouche le butyromètre au moyen d'un bouchon Fibu et on l'agite énergiquement. On met le butyromètre au bain-marie à 65° C pendant 5 minutes. On centrifuge pendant 6 minutes puis on replace à nouveau au bain-marie à 65° C pendant 4 minutes.

On fait la lecture. Le résultat est obtenu, comme dans la méthode de GERBER, en lisant dans la colonne graduée du butyromètre, la quantité de matière grasse isolée. Les chiffres sont exprimés en grammes par litre.

Après chacun de nos dosages, les pipettes et les butyromètres étaient nettoyés à l'eau chaude puis rincés à l'eau distillée et ensuite avec un mélange d'éther et d'alcool.

TROISIEME PARTIE

ETUDE EXPERIMENTALE DE LA METHODE DE FERRARA ET DE PAOLIS

EXPERIMENTATION N° 1

Réalisée sur du lait frais.

Dans deux butyromètres GERBER, on verse à l'aide des pipettes spéciales :

10,4 cm3 de lait
10 cm3 de solution de FERRARA et DE PAOLIS
1 cm3 d'alcool isoamylique

Les butyromètres sont agités énergiquement puis placés au bain-marie à 65° c. La graisse nettement colorée en rose par l'Ecarlate est déjà séparée, au moins en partie.

On centrifuge alors pendant 6 minutes avant de placer à nouveau les butyromètres au bain-marie à 65° c pendant 4 minutes.

On réalise la lecture de la quantité de matière grasse isolée dans le tube gradué des butyromètres. Dans l'un on peut lire 32 g/l. Dans l'autre on lit 28 g/l.

Deux dosages comparatifs réalisés avec le même lait selon la méthode de GERBER donnent 32,5 g/l de matière grasse comme résultat.

Dans les deux butyromètres utilisés pour le dosage selon la méthode de FERRARA et DE PAOLIS, on constate, à la base de la colonne de matière grasse, la présence d'un dépôt, plus important dans un des butyromètres et génant la lecture de la graduation inférieure correspondant à la base de la colonne de matière grasse.

Nous pensons que ce dépôt provient d'impuretés contenues dans le lait. Nous décidons de filtrer le lait au prochain essai.

EXPERIMENTATION N° 2

On utilise le même lait que pour l'essai N° 1 mais il a été bichromaté pour assurer sa conservation.

Après une parfaite homogénéisation de l'échantillon, celui-ci est filtré.

On réalise la même technique qu'à l'essai N° 1.

Les résultats sont toujours faussés à la lecture par la présence, dans la colonne de matière grasse, d'un dépôt légèrement coloré en rose par l'Ecarlate. Ce dépôt contient donc des graisses.

Il est toujours situé entre la colonne de matière grasse et la solution dégraissée.

Nous pensons que ce dépôt puisqu'il contient des graisses doit être compris dans la lecture du résultat lorsqu'il existe.

EXPERIMENTATION N° 3

Lait bichromaté, filtré et homogénéisé.

Dans un butyromètre GERBER, on mélange suivant la technique des auteurs :

10,4 cm3 de lait
10 cm3 de solution de FERRARA et DE PAOLIS
1 cm3 d'alcool isoamylique

Le butyromètre est agité, on peut déjà voir le dépôt se former.

Le butyromètre est successivement placé :

- 5 minutes dans un bain-marie à 65° c
- 6 minutes dans une centrifugeuse
- 4 minutes dans le même bain-marie

On réalise en même temps un dosage selon la Technique de GERBER avec le même lait.

RESULTAT : GERBER 37 g/l

FERRARA et DE PAOLIS 32 sans compter le dépôt
36,5 avec le dépôt.

Conclusion de l'essai. Il faut tenir compte de la hauteur de dépôt présent dans la colonne de matière grasse pour avoir un résultat sensiblement comparable à celui obtenu par la méthode de GERBER.

Ce dépôt serait donc constitué de matièresgrasses.

EXPERIMENTATION N° 4

On réalise ce nouvel essai avec du lait frais.

Dans un butyromètre A on mélange :

10 cm^3 de solution de FERRARA et DE PAOLIS
10,4 cm^3 de lait
1 cm^3 d'alcool isoamylique

Dans un butyromètre B on fait la même expérience, mais avec le même lait auquel on a ajouté un égal volume d'eau distillée.

Dans un butyromètre C on réalise un dosage selon :
la méthode de GERBER avec le même lait que celui utilisé dans le butyromètre A.

Les trois butyromètres sont agités puis placés au bain-marie à 65-70° pendant 5 minutes. On centrifuge pendant 6 minutes puis on place à nouveau au bain-marie pendant 4 minutes.

RESULTATS : Butyromètre A sans compter le dépôt : 21 g/l
avec le dépôt 34 g/l

Butyromètre B avec dépôt 17 g/l
sans dépôt 14 g/l

Butyromètre C 34 g/l

CONCLUSION : Il semblerait que plus il y a de matière grasse plus il y a de dépôt.

Les résultats, obtenus dans les deux cas avec la méthode des auteurs et en comptant le dépôt, sont satisfaisants.

Un seul inconvénient, le dépôt, de forme irrégulière quelquefois gène la réalisation d'une lecture précise.

EXPERIMENTATION N° 5

Réalisé avec du lait en poudre, demi-écrémé et reconstitué avec 5 g de poudre pour 30 cm3 d'eau.

Dans un butyromètre A on mélange, dans l'ordre indiqué :

10,4 cm^3 de lait
10 cm^3 de solution de FERRARA et DE PAOLIS
1 cm^3 d'alcool isoamylique

Dans un butyromètre B, on verse d'abord :
10 cm^3 de solution de FERRARA et DE PAOLIS
10,4 cm^3 de lait
1 cm^3 d'alcool idoamylique.

Tous les deux sont agités puis laissés :

au bain-marie à 65° pendant 5 minutes
à la centrifugation pendant 6 minutes
au bain-marie à 65° pendant 4 minutes

On note dans les deux butyromètres la présence d'un léger dépôt, régulier, ne génant pas la lecture.

Le résultat obtenu dans les deux cas est le même

14 g/l en comptant le dépôt
13 g/l sans le compter.

Nous avons pu constater que sur ce lait parfaitement homogène , les premières traces de dépôt apparaissaient au moment où, en agitant le butyromètre, la solution de FERRARA et DE PAOLIS et le lait venaient en contact.

L'ordre d'introduction des différents corps dans le butyromètre est sans influence.

Le dépôt obtenu au cours de cet essai et recueilli dans une coupelle est dissout par l'acide sulfurique utilisé dans la méthode de GERBER.

EXPERIMENTATION N° 6

Sur du lait frais, homogénéisé, filtré.

On réalise la technique telle qu'elle est indiquée par les auteurs dans deux butyromètres GERBER.

Le but de cet essai est de recueillir plus de matière déposée qu'à l'essai précédent pour pouvoir l'étudier.

Dès que l'on agite les butyromètres le dépôt se forme. Après un premier séjour au bain-marie à 65° c il est nettement isolé au milieu de la matière grasse.

La centrifugation et le second séjour de 4 minutes au bain-marie le placent à la base inférieure de la colonne de matière grasse. Le dépôt correspond à environ graduations de verre.

Recueilli dans une coupelle, il se présente sous la forme d'une masse gélatineuse blanchâtre mais légèrement colorée en rose par le colorant des graisses.

Mis à l'air, le dépôt se dessèche et sa coloration rose devient plus franche.

Nous avons vu au cours de l'essai N° 5 qu'il était dissout par l'acide sulfurique.

Nous pensons que ce dépôt peut être dû aux phospholipides du lait.

Nous réalisons la réaction des lécithines au réactif de Florence. Elle est négative.

Par ailleurs le dépôt est trop volumineux pour être dû aux seuls phospholipides contenus dans 10,4 cm^3 de lait.

EXPERIMENTATION N° 7

Notre but sera de chercher à éliminer ce dépôt ou à améliorer le résultat au cours des manipulations suivantes en augmentant la durée et la température du bain-marie ainsi que la durée de la centrifugation.

Dans les deux premiers échantillons, l'importance du dépôt et l'irrégularité de sa forme ne nous permet pas de l'évaluer. Nous sommes cependant obligés de tenir compte de sa présence au milieu de la colonne de matière grasse pour obtenir un résultat sensiblement comparable à celui fourni par la méthode de GERBER.

Dans le troisième échantillon, la masse déposée étant homogène nous avons pu l'évaluer et le résultat obtenu sans la compter donne 36 g/litre au lieu de 42 en la comptant, résultat correspondant à celui de la méthode de GERBER.

Nous avons cependant été obligésd'interrompre nos essais dans ce sens, car d'une part le dépôt était toujours présent et d'autre part l'élévation de Température du bain-marie avait pour effet de faire sauter les bouchons des butyromètres dans des proportions trop grandes.

RESULTAT EN g/l

Echantillon	Température du Bain-marie	Durée 1er B M	Durée Centrifugation	Durée 2e B M	GERBER	FERRARI ET DE PAOLIS
lait frais partiellement écrémé	80° c	15 Mn	6 Mn	10 Mn	22,5	22
"	80° c	15 Mn	6 Mn	10 Mn	22,5	22,5
lait bichromaté :	85° c	10 Mn	8 Mn	10 Mn	42	42

EXPERIMENTATION N° 8

Nous allons, en prenant 11 cm3 de lait au lieu de 10,4, essayer d'obtenir au dessus du dépôt une colonne de matière grasse pure correspondant à la quantité trouvée par la méthode de GERBER.

Essai réalisé avec le même lait que celui du premier échantillon de l'expérimentation N° 7 et dont la teneur en matière grasse est de 22,5 g/l.

Dans deux butyromètres A et B, on mélange :

9,5 cm3 de solution de Ferrara et De Paolis
11 cm3 de lait
1 cm3 d'alcool isoamylique

Après agitation des appareils, on les place dans un bain-marie à 80° c pendant 15 minutes. On centrifuge pendant 6 mn, puis on replace dans le bain-marie à 80° pendant 5 mn.

Les lectures donnent butyromètre A : 24,5 sans dépôt
butyromètre B : 26 sans dépôt

Il y a donc trop de lait et de plus le dépôt n'est pas aussi important dans les deux butyromètres.

EXPERIMENTATION N° 9

Avec du lait bichromaté. L'échantillon est parfaitement homogénéisé puis filtré.

Dans deux butyromètres A et B on réalise la même manipulation qu'à l'essai précédent.

Les températures des bains-marie et les durées d'immersion et de centrifugation sont les mêmes que celles indiquées par FERRARA et DE PAOLIS.

Un GERBER comparatif est réalisé, il donne comme résultat 31 g/l.
Dans le butyromètre A on a 33,5 (en faisant abstraction du dépôt)
Dans le butyromètre B on a 32.

Il y a donc trop de lait et toujours aucune proportionnalité entre la quantité de dépôt et celle de matière grasse.

EXPERIMENTATION N° 10

Nous allons essayer d'empêcher la formation de ce dépôt en ajoutant à la technique de FERRARA et DE PAOLIS quelques gouttes d'agents réputés favorables à la disjonction du lait par KOPACZEWSKI.

Nous utiliserons en particulier l'Ammoniaque pure à 20 % ajoutée en quantité variable au mélange constitué dans le butyromètre selon le procédé de FERRARA et DE PAOLIS.

Echantillon	Nombre de gouttes de NH_4OH	Température du bain-marie en 0 c	Résultat obtenu en g/l	GERBER comparatif
1 lait bichromaté	3	77	30,5	31
2 " "	4	68	40	36
3 lait frais	5	68	37	36
4 lait frais	7	68	33	33
5 le même lait	8	68	34,5	33
6 lait frais	10	70	34	34
7 lait bichromaté	10	68	31	32
8 même lait	10	68	31,5	32
9 lait bichromaté	10	65	41	37
10 même lait	10	65	37	37

Les résultats, tout en étant assez proches de ceux obtenus par la méthode de GERBER, diffèrent dans 7 cas sur 10. Lorsque plusieurs essais sont réalisés avec un même lait, les résultats ne correspondent pas toujours exactement.

Nous avons essayé aussi, sans plus de succès l'adjonction au mélange de FERRARA et DE PAOLIS de quelques gouttes de Sulfure de Carbone à 5/10. Nous nous bornerons donc, au cours de nos futurs essais à expérimenter la Technique telle qu'elle est indiquée par les auteurs sans y apporter de modifications.

EXPERIMENTATION N° II

Pour synthétiser nos résultats et pour comparer facilement la méthode des auteurs et celle de GERBER nous avons groupé nos essais dans un Tableau. Dans certains cas il nous a été impossible de mettre un chiffre dans la troisième colonne tant l'évaluation du dépôt toujours de forme irrégulière, était difficile à réaliser.

Quant aux résultats eux-mêmes, il nous était impossible de les évaluer à moins de 0,5 g près, dans les conditions courantes de lecture.

	Nature de L'échantillon de lait	Résultats en g/l			Différence entre les deux méthodes
		Méthode de GERBER	Méthode de FERRARA et DE PAOLIS		
			sans dépôt	avec dépôt	
1	Lait frais	34	29	34	0
2	Lait bichromaté	32,5		32,5	0
3	Lait écrémé bouilli	22,5	22,4	22,5	0
4	Lait frais	35		35	0
5	Lait frais	40	35	40,5	0,5
6	Lait frais	41	38,5	41	0
7	Même lait	41	39	40,5	0,5
8	Lait bichromaté	33		32,5	0,5
9	Même lait	33		33	0
10	Lait frais	33	31	33	0
11	Même lait	33	29	33	0
12	Lait bichromaté	41	36	41	0
13	Lait pasteurisé	28		27,5	0,5
14	Même lait	28		27,5	0,5
15	Lait bichromaté	37	22	37	0
16	Lait frais	40		40	0
17	Lait frais	52		52	0
18	Lait bichromaté	36	34,5	36	0
19	Même lait	36	35	35,5	0,5
20	Même lait	36	35	35,5	0,5
21	Lait frais	34	26	34	0
22	Lait frais	34	25,5	34	0

La teneur plus ou moins forte d'un lait en matière grasse n'a aucune influence sur la quantité de matière déposée. D'autre part, la valeur de ce dépot qui, comme nous l'avons vu au cours des précédentes expérimentations, contient de la matière grasse doit être ajouté à celle de la matière grasse isolée au moment de la lecture du résultat.

Sur les vingt deux essais rapportés dans le Tableau précédent quinze montrent que le résultat obtenu par la méthode de FERRARA et DE PAOLIS est comparable à celui obtenu par la méthode de GERBER. Dans les autres cas, la différence n'excède pas 0,5 g/l, ce qui correspond à une demi-division de la tige graduée du butyromètre GERBER.

Enfin la méthode n'est pas assez fidèle puisque sur 1/3 des essais réalisés en double ou triple avec le même lait, on pouvait noter une différence de 0,5 g/l entre les deux ou trois résultats obtenus.

La méthode est donc moins précise et moins fidèle que la méthode GERBER à laquelle nous l'avons comparée.

C O N C L U S I O N

La méthode proposée par FERRARA et DE PAOLIS est d'un emploi très facile et ne présente aucun danger pour l'opérateur. Elle utilise les mêmes instruments que ceux destinés à la technique de GERBER, c'est-à-dire la centrifugeuse, le bain-marie et les butyromètres.

Les auteurs voulaient réaliser une méthode permettant de remplacer celle de GERBER couramment utilisée dans l'industrie laitière et dont le danger d'emploi a beaucoup diminué avec l'usage des doseurs d'acide sulfurique. Ces appareils permettent d'introduire, simultanément, l'acide dans une dizaine de butyromètres sans nécessité aucune manipulation de la part de l'opérateur.

La méthode de FERRARA et DE PAOLIS, inspirée par de nombreuses techniques présentant les mêmes avantages, n'apporte aucun accroissement de précision par rapport aux autres méthodes sinacides utilisées en France.

Sur quarante essais décrits et sur tous les essais réalisés, nous n'avons pu éliminer le dépôt se formant à chaque dosage Cet amas, contenant des graisses et dont on doit tenir compte à la lecture pour obtenir un résultat comparable à celui donné par la méthode GERBER, serait dû à une légère concretion des bulles de détergent les plus petites.

Un examen au microscope de ce dépôt montre une juxtaposition de très fines bulles emprisonnant de nombreux globules gras au milieu d'elles Ce phénomène apparait dès le mélange des différents liquides dans le butyromètre. Au cours des manipulations le volume de ce dépôt ne varie pas mais sa présence empêche la réalisation d'une lecture précise des résultats.

Nous ne pouvons, à la fin de cette expérimentation, que confirmer les conclusions des auteurs eux-mêmes qui présentaient leur méthode comme étant "assez précise, rapide, dénuée d'inconvénients, d'application pratique pour le contrôle fonctionnel et pour l'appréciation de la valeur commerciale du lait".

Vu :

Le Professeur de l'Ecole Vétérinaire
Rapporteur :

GODFRAIN

Vu :

Le Directeur de l'Ecole Vétérinaire

P. PONS

Vu :

Le Président de la Thèse

BOURBON

Vu :

Le Doyen,

Pour le Doyen
l'assesseur
DELAS

N° 599

Vu et Permis d'Imprimer
Toulouse, le 5 Juin 1961,

Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université,

DOTTIN

B I B L I O G R A P H I E

A. ROCHAIX et A. TAPERNOUX -
Le lait et ses dérivés - PARIS 1948 - VIGOT Edit.

E. POZZI - ESCOT -
Le lait - 1926 - 601.

W. KOPACZESWSKI -
Le lait 1949, 140.

S.M. et P. PERRIN -
Guide pratique pour l'analyse du lait. PARIS 1909 - BAILLERE édit.

L. GENTILINI -
Il latte 1950 - 7 - 219.

A. SALERNO -
Il Latte 1953 - 10 - 553.

P. SCHAIN
Science 1949 - 110 - 121 July 29

M. BEAU -
La caséïne - PARIS 1932 - Le lait Edit.

G. RAY -
Technologie laitière - PARIS 1946 - DUNOD Edit.

J.C. GODFRAIN
Le lait 1956 - 358, 492.

D. TRACATELIS -
Thèse de Doctorat Vétérinaire - TOULOUSE 1955.

D. FERRARA et DE PAOLIS -
Le lait 1957, 368, 482.

R. MOREAU
Le lait 1957, 503.

W. KOPACZEWSKI -
Le lait 1952 - 32, 169.

TABLE DES MATIERES

Pages

- INTRODUCTION 1

Ière PARTIE : GENERALITES SUR LA MATIERE GRASSE DU LAIT ET SUR SON DOSAGE 3

I - La matière grasse du lait 3
- Définition 3
- Composition chimique 3
- Structure physique 4

II - Principe du dosage de la matière grasse 6
1er Temps : Disjonction du lait et libération de la matière grasse 6
2èmeTemps : Extraction et lecture de la quantité de matière grasse isolée 7

IIème PARTIE : ETUDE DE LA METHODE DE FERRARA ET DE PAOLIS 8

I - Rappel historique des méthodes sinacidés l'ayant précédée et inspirée 8

II - Principe du dosage par la méthode de FERRARA et DE PAOLIS 12

III- Les réactifs utilisés 13
- La solution de Salicylate de Sodium 13
- Le Tween 40 13
- L'alcool Isoamylique 14
- Le colorant des graisses 14

IV- Technique d'utilisation 15

IIIème PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE DE LA METHODE 17
- Réalisation et résultats de quarante essais choisis 23

- CONCLUSION 29
- BIBLIOGRAPHIE 31